辅酶Q_{10}的毒性试验及对溶血空斑形成细胞的刺激效应*

胡 钧 许以盛 张汉云 李朝达
（中国科学院昆明动物研究所）

关键词 生化药物 猪心残渣 辅酶Q_{10}

辅酶Q_{10}（以下简称CoQ_{10}）是生物体内普遍存在的一类生物活性物质，具有重要的生理、生化作用。它是细胞呼吸链中主要的递氢体，在生物能量转化中占重要地位，它又能作为非特异性免疫增强剂，增强机体的防御能力，因此人们对于CoQ_{10}的临床研究越来越受到重视（中国科学院昆明动物研究所，1979）。

我们结合我国具体情况，独创地从提取细胞色素丙的猪心残渣中分离制备了CoQ_{10}，（许以盛等，1985），并与有关生产及临床单位协作，于1977年12月通过了鉴定，为我国的生化药物填补了一项空白。

据千叶胤孝的报道（1972），人工合成的CoQ_{10}是几乎无毒性的化合物。我们对猪心残渣中分离的CoQ_{10}进行了动物的急性及亚急性毒性观察，并通过溶血空斑试验观察了CoQ_{10}的免疫刺激效应。

材 料 与 方 法

（一）CoQ_{10}的毒性试验

1.动物 急性毒性试验用小白鼠，体重20克。试验组、对照组各10只（雌、雄各半）。亚急性毒性试验用杂种成年狗，在固定的饲养条件下驯养半个月后做试验，体重13—15公斤，实验组3只（全部雄），对照组3只（雌1雄2）。

2.药品 从提取细胞色素丙后的猪心残渣中制备的CoQ_{10}（由泰州生物制品厂供给）。经无水乙醇重结晶一次，熔点47°C—48°C。

3.药物配制 试验组：一份CoQ_{10}加十倍量吐温80(W/W)，充分搅匀，再以5%

* 昆明军区总医院检验科协助进行有关血液学及血液生化指标的检查，中国科学院上海药物研究所乐俊民同志协助进行溶血空斑形成细胞测定工作，特此一并致谢。
本文1980年4月11日收到，1984年11月21日收到修改稿。

葡萄糖注射液稀释成10毫克/毫升的浓度，热灭菌后置冰箱保存。对照组：不加 CoQ_{10}，其它辅剂同实验组。

4.给药方式及剂量 小白鼠的急性毒性试验，腹腔注射，一次给药1毫升（500毫克/公斤）。狗亚急性毒性试验为肌肉注射，每天一次给药6毫升，连续15天。

5.观察项目及方法 1）急性毒性试验 给药前称体重，给药后隔天称体重，观察死亡数及一般的临床毒性反应。2）亚急性毒性试验 给药前一天称体重，停药后复称一次，观察每只狗体重变化。在给药期间，每天观察其食欲、行动、精神、大小便等。

在给药前一天；给药中（第6天及第10天）；刚停药（停药后第1天及第5天）及停药后（停药后第8天及第12天）分四次从饥饿24小时后的狗的小隐静脉抽血，检查全部试验组及对照组6只狗的红细胞计数、白细胞计数、血红蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、麝香草酚浊度、黄疸指数、总蛋白、尿素氮、糖、钾、钠、总胆固醇、碱性磷酸酶等血液学及血液生化指标。

最后一次抽血化验后，把全部6只狗从股动脉放血杀死，进行整体解剖检查，并分别取出肝、心、肺、脾、肾等器官用10%福尔马林液固定，然后作组织学切片检查。

（二）CoQ_{10}对溶血空斑形成细胞生成的刺激效应。

1.动物 $C_{57}BL$纯系小鼠，10周龄，雌性，体重18—23克，每实验组5只。

2.药物 CoQ_{10} 针剂，1毫克/毫升（泰州生物制药厂供给），经热灭菌和超声处理。

3.溶血空斑试验 绵羊红血球（SRBC）贮存于4°C Alsever 氏溶液，用前以冷生理盐水低速离心洗涤3次，配成 15×10^{8} SRBC/毫升的悬液，每鼠以 3×10^{8}/0.2毫升的SRBC腹腔免疫。

免疫后第3、4、5、7天的小鼠分批断头放血，取同组5只小鼠脾脏，用含5%小牛血清之生理盐水将脾洗净，剪碎，经八层纱布过滤，制成脾细胞悬液，细胞操作均在冰冻条件下进行。将0.1毫升的脾细胞（约 1×10^{5} 有核细胞）和0.1毫升的SRBC悬液（3×10^{8}细胞）加入于50°C保温的软琼脂液中（2毫升 Eagle 氏培养液内含0.6%琼脂和0.05%DEAE—葡聚糖），迅速摇匀倾注于内径为8.5厘米的洁净玻璃培养皿内。待琼脂布满，均匀凝固后置37°C温育1小时，以2毫升用生理盐水稀释5倍之新鲜豚鼠血清复盖后，于37°C再温育半小时，然后准确计数每皿出现的溶血空斑数，同时以锥虫兰染色准确计数加入每皿的脾细胞，以推算每 10^{6} 脾脏有核细胞中的溶血空斑形成细胞数（PFC）。每组4皿，用t测验统计处理。

结 果

（一）对小白鼠的急性毒性观察

500毫克/公斤一次给药后，连续观察七天，无一只死亡，也无明显的毒性反应，仅发现试验组在给药后头二天有轻度腹泻现象，体重稍减轻，但很快恢复正常。

（二）对狗的亚急性毒性观察

1.一般状态及体重变化　在给药期间，试验组狗在食慾、行动、精神、大小便等一般症状方面并无不良变化，体重稍有增加，但与对照组相比无显著差异。

2.血液学及血液生化检查　结果见表1—3。

谷丙转氨酶、谷草转氨酶、麝香草酚浊度、黄疸指数、总蛋白、尿素氮、糖、钾、钠、碱性磷酸酶等血液生化指标的变化均在正常值范围内。以试验组与对照组相比无显著差异，看不出有任何注射CoQ_{10}而引起的药物影响。

表1　狗注射CoQ_{10}后血液生化检查结果

组别	动物编号	检查次数*	谷丙转氨酶(King氏)	谷草转氨酶(King氏)	麝香草酚浊度	黄疸指数	总蛋白(mg%)	尿素氮(mg%)
		(1)	60	30	2	1	6.3	14.3
	1	(2)	90	30	1	1	5.6	7.5
对		(3)	100	90	1	3	4.7	14.2
		(4)	40	30	1	**	5.6	7.0
		(1)	40	20	1	1	5.6	18.2
	2	(2)	50	20	1	1	4.9	7.5
照		(3)	60	60	1	1	5.0	10.1
		(4)	60	20	1	1	5.4	5.0
		(1)	50	20	1	1	6.1	12.4
		(2)	60	40	1	1	5.1	12.6
组	3	(3)	80	50	1	1	5.4	10.9
		(4)	80	20	1	1	5.6	5.0
		(1)	30	20	1	1	5.4	14.3
	4	(2)	90	80	1	1	4.9	7.5
试		(3)	60	60	1	1	4.9	11.3
		(4)	100	20	1	1	5.8	7.0
		(1)	110	30	1	1	5.8	18.2
	5	(2)	50	50	1	2	5.1	13.5
验		(3)	110	60	1	1	5.1	7.5
		(4)	90	10	1	1	6.6	7.0
		(1)	60	50	1	1	6.1	18.2
		(2)	110	60	1	2	5.1	10.0
组	6	(3)	100	50	1	2	5.6	10.9
		(4)	120	30	1	1	5.1	5.0

*　（1）给药前一天。

（2）1号及5号狗给药十天后测定；2号、3号、4号、6号狗给药十一天后测定。

（3）1号及5号狗停药一天测定；2号、3号、4号、6号狗停药后五天测定。

（4）1号及5号狗停药后八天测定；2号、3号、4号、6号狗停药后十二天测定。

**　因溶血未测

表2 狗注射 CoQ_{10} 后血液学检查结果

组别	动物编号	检查次数*	红细胞计数(万)	白细胞计数(千)	血红蛋白(g)
对照组	1	(1)	460	14.0	9.0
		(2)	541	10.5	11.2
		(3)	462	18.6	13.5
		(4)	510	10.5	9.5
	2	(1)	570	14.5	11.0
		(2)	461	14.4	8.8
		(3)	402	15.7	12.0
		(4)	497	16.7	7.5
	3	(1)	528	16.5	9.5
		(2)	435	13.7	10.5
		(3)	447	12.6	14.5
		(4)	581	13.1	10.5
试验组	4	(1)	526	19.3	10.0
		(2)	502	20.9	10.2
		(3)	412	18.0	15.0
		(4)	508	17.9	9.0
	5	(1)	638	22.0	11.0
		(2)	510	10.0	11.5
		(3)	529	14.8	15.5
		(4)	535	12.6	10.0
	6	(1)	509	13.0	9.0
		(2)	545	7.6	10.8
		(3)	454	9.3	13.5
		(4)	413	11.0	9.0

* 同表1

表3　　狗注射 CoQ_{10} 后血液生化检查结果

组别	动物编号	检查次数*	糖(mg%)	钾(毫克当量/升)	钠(毫克当量/升)	总胆固醇(mg%)	碱性磷酸酶(king氏)
对照组	1	(1)	64	4.8	144	235	4.5
		(2)	71	**	140	270	3.5
		(3)	73	**	136	230	3.5
		(4)	90	4.0	135	200	5.0
	2	(1)	73	4.7	138	220	4.0
		(2)	71	**	140	210	3.5
		(3)	77	4.5	138	160	4.6
		(4)	84	4.2	155	160	8.5
	3	(1)	77	4.3	150	240	1.0
		(2)	71	4.4	135	250	1.2
		(3)	83	4.3	138	190	2.0
		(4)	90	4.9	159	160	3.6
试验组	4	(1)	64	4.8	138	245	4.5
		(2)	68	4.6	140	235	4.0
		(3)	77	4.5	138	170	4.0
		(4)	88	4.0	155	180	6.5
	5	(1)	68	4.5	138	220	6.0
		(2)	73	4.6	137	195	2.5
		(3)	77	4.5	140	170	3.5
		(4)	84	4.0	157	150	5.5
	6	(1)	68	4.5	144	230	2.5
		(2)	70	4.2	137	210	2.5
		(3)	81	4.7	136	190	3.0
		(4)	89	4.2	159	150	3.5

* 同表1

** 因溶血未测

总胆固醇都有降低的趋势，但以试验组与对照组相比，无显著的差异。

红细胞计数，白细胞计数，血红蛋白等血液学指标的检查，以试验组与对照组相比无异常的变化。

3.整体解剖及病理组织学检查　最后一次抽血化验后第五天，对狗进行了整体解剖检查，在所有三只试验组狗的整体解剖检查中，均未见有因注射 CoQ_{10} 而引起的病理变化。

对全部狗的肝、心、肺、脾、肾等器官进行的组织学切片检查，也未见试验组动物有任何异常变化。

（三）对溶血空斑形成细胞生成的刺激效应

在用SRBC免疫前2天，分别腹腔注射CoQ_{10}0.4毫克/0.4毫升（20毫克/公斤）；0.2毫克/0.4毫升（10毫克/公斤）或生理盐水0.4毫升（对照组），各组动物分别于免疫后的第3、4、5、7天处死，比较注射不同剂量的CoQ_{10}和生理盐水各组动物之动态变化。结果如表4和图1所示。

表4　注射CoQ_{10}后小鼠PFC的动态变化

组别		对照	CoQ_{10} 20毫克/公斤			CoQ_{10} 10毫克/公斤		
		PFC/10^6	PFC/10^6	T/*C	P值	PFC/10^6	T/C	P值
免疫	3	53±25	89±8	1.68	>0.05	111±41	2.09	>0.05
后	4	922±209	1375±192	1.49	<0.05	1298±18	1.41	<0.05
天	5	460±23	552±44	1.20	<0.05	568±131	1.23	>0.05
数	7	21±4	27±5	1.29	>0.05	27±2	1.29	>0.05

* T/C为给药组与对照组PFC/10^6之比值。

讨　　论

CoQ_{10}是一种脂溶性物质，在我们的试验中以乳剂形式，腹腔一次给药后，小鼠在头二天有轻度腹泻现象，引起其体重暂时性减轻，但很快恢复正常。实验结果表明CoQ_{10}对小鼠的$LD_{50}>500$毫克/公斤。

从狗的亚急性毒性试验中，所有检查项目包括血液学及血液生化等14项指标，解剖观察以及对心、肝、肺、脾、肾等器官的组织学检查，无论以自身对照或以试验组与对照组相比，均无显著的差异。

CoQ_{10}刺激机体的网状内皮系统，增进免疫反应，对多种小鼠肿瘤显示抗肿瘤活性，延长动物的生存期。我们用溶血空斑试验证实CoQ_{10}具有免疫刺激作用。在用绵羊红血球免疫前二天腹腔注射20毫克/公斤或10毫克/公斤的CoQ_{10}显示大致相等的刺激效应，其作用贯

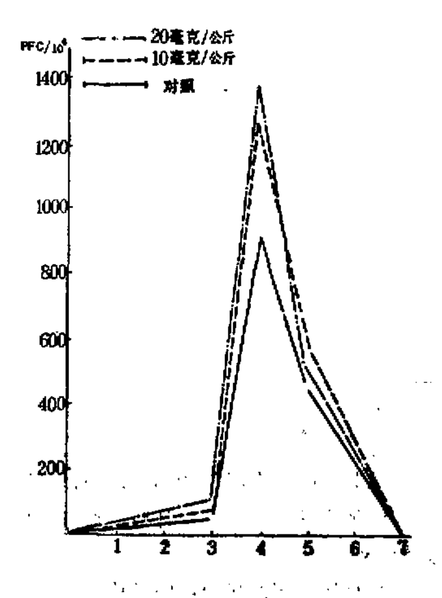


图1　注射辅酶Q_{10}之小鼠PFC的动态变化

穿于抗体合成反应的全过程。在脾脏中出现溶血空斑形成细胞高峰的第4天，20毫克/公斤和10毫克/公斤给药组PFC/10^6分别为对照组的1.49和1.41倍，统计学处理有显著意义。说明CoQ_{10}对促进抗体合成，提高免疫反应方面有一定作用。

在国内临床试用中，我们调查了292例病人，均未见CoQ_{10}有任何毒性，也未见明显副作用。对免疫功能低下的各型病毒性肝炎及恶性肿瘤患者的临床试用中，普遍发现CoQ_{10}能改善患者的免疫功能，如结核菌素试验、斑蝥发泡试验、植物血凝素试验、玫瑰花结试验等免疫反应试验指标均有增强，与动物试验的结果一致。

参　考　文　献

中国科学院昆明动物研究所辅酶Q_{10}研究组　1979　辅酶Q_{10}及其在医学上的应用．　生物化学与生物物理进展5，34

许以盛、胡钧、张汉云　1985　从提取细胞色素丙后的猪心残渣中制备辅酶Q_{10}的研究。动物学研究6(1)，1—8

Chiba, T. *et al*. 1972 Toxicological studies of ubiquinone-10.(Ⅰ) Acute toxicity test in rats and mice and subacute and chronic toxicity tests in rats. *Pharmacometrics* 6(4):769—779

Chiba, T. *et al*. 1972 Toxicological studies of ubiquinone-10. (Ⅱ) Subacute toxicity test in rabbits. *Pharmacometrics* 6(4):781—786

TOXICITY STUDY ON CoQ_{10} AND ITS STIMULANT EFFECT ON THE FORMATION OF PLAQUE-FORMING CELLS

Hu Jun　Xu Yisheng　Zhang Hanyun　Li Chaoda

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica*)

The acute toxicity test in mice shows that the LD_{50} of CoQ_{10} administered i.p. is above 500 mg/kg. The subacute toxicity test in dogs leads us to the conclusion that CoQ_{10} administered i.p., 60 mg/dog, daily for 15 days causes no significant adverse effects on their general conditions, haematological and biochemical indices. Autopsy and histological examinations also show no significant pathological changes in hearts, livers, lungs, spleens and kidneys in treated dogs.

When administered i.p., 20 mg/kg and 10 mg/kg, CoQ_{10} increase the formation of plaque-forming cells in murine spleens by 0.49 and 0.41 respectively.

The possibility of clinical applications of CoQ_{10} suggested by our results are discussed.

Key words　Biochemical drug　Raff of pig heart　Coenzyme Q_{10}